

**„Der Immunitätsablauf beim Schwein
nach Tetanus - Schutzimpfung mit
Aluminiumhydroxyd-Adsorbat-Impfstoff“**

Josef Lipsky

Aus dem A S I D - I N S T I T U T Neuherberg vorgelegt
bei dem Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. A. M E Y N

"Der Immunitätsablauf beim Schwein nach Tetanus-
Schutzimpfung mit Aluminiumhydroxyd-Adsorbat-
Impfstoff"

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München



von
Josef L i p s k y
prakt. Tierarzt in Berchtesgaden

München 1957

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. H. L i e b m a n n

Referent: Professor Dr. A. M e y n

Tag der Promotion: 24. Juli 1957

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
I. Einleitung	1
II. Literatur	2
1. Die passive Immunisierung gegen Tetanus	2
2. Die aktive Immunisierung gegen Tetanus	2
3. Das vorkommen von natürlichem Tetanusantitoxin	5
4. Die Entstehung des Tetanus-Antitoxins	6
5. Die Antitoxinwerte nach Impfung mit Tetanus-Toxoid bei Menschen und Pferden	8
III. Eigene Untersuchungen	11
1. Tiermaterial	11
2. Methodik	14
3. Eigene Versuche	17
a) Antitoxintiter der Versuchstiere No.6-9 vor der ersten Impfung	17
b) Antitoxintiter der Versuchstiere No. 6 - 9 am 30. Tag nach der ersten Impfung	19
c) Gesamtergebnis der Untersuchungen	26
d) Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse	29
IV. Besprechung der Versuchsergebnisse	31
V. Zusammenfassung	33
VI. Literaturverzeichnis	34
Lebenslauf	39



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Eine der bösartigsten, durch Bazillen-bzw. deren Sporen verursachte Wundinfektions-Krankheit ist der Starrkrampf. Sein Erreger, der Bazillus Tetani, ist ein anaerobes geißeltragendes Stäbchen, das an einem Ende eine trommelschlägelähnliche Spore bildet. Gelangen der Bazillus oder seine Sporen in eine mit Gewebszerstörung oder Blutungen einhergehende Wunde, so wird in dieser das Toxin gebildet.

M E Y E R und R A N S O M glauben annehmen zu können, daß das Tetanus-Toxin auf dem Wege über die Nervenfasern den motorischen Nervenzellen zugeleitet wird und daß es die zu den motorischen Ganglien gehörigen Muskelgruppen in Dauer-Kontraktion versetzt.

Im allgemeinen erfolgt die Infektion durch Verunreinigung von Hautwunden mit Stoffen, die den ubiquitär vorkommenden Tetanus-Bazillus tragen, doch konnte R O L L E nachweisen, daß bei Vorliegen besonders günstiger Bedingungen eine Infektion auch auf dem Wege über den Darm-Traktus möglich ist.

Da auch das Schwein - ebenso wie dies beim Menschen, beim Pferd, beim Rind und schließlich auch bei den Fleischfressern der Fall ist - der Gefahr traumatischer Verletzungen ausgesetzt ist, müssen sich Theorie und Praxis der Tierheilkunde mit der Tetanusprophylaxe beim Schwein ebenfalls beschäftigen. Dabei ist es wichtig, Erkenntnisse über den Immunitäts-Ab-
lauf beim Schwein nach Schutzimpfungen mit Tetanus-Toxoid zu gewinnen, zu welchem Zweck mir die das Thema dieser Arbeit bildende Aufgabe gestellt wurde.

II. Literatur

1. Die passive Immunisierung gegen Tetanus.

Nachdem im Jahre 1884 durch die Italiener CARLE und RATTONE der Infektions-Charakter des Starrkrampfes festgestellt bzw. höchstwahrscheinlich gemacht worden war und im Jahre 1885 durch NICOLAIER der Nachweis des Tetanus-Infektionsstoffes im Erdboden gelungen war, konnten E.v.BEHRING und KITASATO auf diese Feststellungen ihre Arbeiten gründen, die in der Lösung des Problems der vorbeugenden passiven Schutz-Impfung gegen Starrkrampf gipfelten. Zuerst von Kaninchen und dann von Pferden wurde antitoxisches Serum gewonnen, das zunächst im Tierversuch erprobt wurde.

NOCARD führte in den Jahren 1895 bis 1897 prophylaktische Impfungen von Tieren durch und konnte dabei die sichere Wirksamkeit des von ihm benutzten Starrkrampf-Immun-Serums feststellen. Allerdings war die Schutzdauer der passiven Impfung mit Tetanus-Antitoxin zeitlich sehr begrenzt und blieb es auch, wenngleich das Serum im Laufe der Jahre vor allem in Bezug auf Antitoxingehalt, Reinheit und Verträglichkeit erheblich verbessert werden konnte. Zwar stellte sich die passive Immunität - wie die angestellten Versuche ergaben - fast sofort ein, wofür allerdings auch die Gabe verhältnismäßig hoher Dosen Voraussetzung war; dafür erschöpfte sich aber das Antitoxin des Serums sowohl bei menschlichen als auch bei tierischen Patienten ausserordentlich schnell, und ausserdem beobachtete man - und zwar besonders wieder bei Menschen - das Auftreten von Allergien, Anaphlaxie und von Serum-Komplikationen. Diese Mängel der passiven Serumprophylaxe zu vermeiden, war das Ziel weiterer Forschungen, denen die Überlegung zu Grunde lag, daß ein langandauernder aktiver Schutz der Organismen nur durch eine Mobilisierung der körpereigenen Abwehrstoffe, mithin durch eine aktive Immunisierung geschaffen werden könnte.

2. Die aktive Immunisierung gegen Tetanus.

Der im allgemeinen bei der Prophylaxe infektiöser Krankheiten beschrittene Weg, die Abwehrkräfte eines Körpers durch Zuführung bestimmter Mengen von Gift des Krankheits-Erregers zu mobilisieren und so einen Antitoxintiter

zu schaffen, der die Neutralisierung des vom Krankheitserreger ausgeschiedenen Toxins ermöglicht, konnte in der Starrkrampfbekämpfung nicht eingeschlagen werden, weil das Tetanustoxin wegen seiner ungeheuren Giftigkeit selbst in kleinsten Mengen noch zu gefährlich ist. Man mußte deshalb versuchen, das Tetanustoxin soweit, zu entgiften bzw. soweit abzuschwächen, daß es - ohne dem Organismus Schaden zufügen zu können - seine antigene Wirkung beibehält.

Die Versuche nun, die man in Angleichung an die von S C H M I T H (1907) und von B E H R I N G (1913) bei der Diphtherieprophylaxe mit neutralisierten Toxin - Antitoxin-Mischungen unternommenen, nun auch bei Pferden mit Tetanustoxin - Antitoxin - Gemischen durchführte, zeigten noch keine befriedigenden Ergebnisse. Für die weiterhin angestellten Untersuchungen wurden richtungsweisend diejenigen von B U R K H A R D, der bereits 1895 mit Erfolg das Tetanustoxin durch Formol und Wärme so abgeschwächt hatte, daß er bei den zu seinen Versuchen benutzten Mäusen eine aktive Immunität gegen Starrkrampf erzielen konnte.

Während des 1. Weltkrieges versuchten v. E I S L E R und L Ö W E N - S T E I N die den zahlreichen Verwundeten drohende Gefahr der Tetanusinfektion durch Vaccination mit einem durch Formol und Wärme geschwächten Tetanustoxin zu bannen, mußten aber dabei feststellen, daß trotz Impfung teilweise recht erheblicher Dosen ein aktiver Schutzzustand gegen Starrkrampf nicht erzielt werden konnte. Das Versagen der von ihnen angewandten Methode dürfte seine Ursache darin gehabt haben, daß durch das von ihnen gewählte Entgiftungsverfahren gleichzeitig auch die antigene Wirksamkeit des Antitoxins zu stark beeinträchtigt bzw. gänzlich aufgehoben wurde.

Dagegen gelang es v. E I S L E R gemeinsam mit S I L B E R S T E I N, mit einem nach einem anderen Verfahren gewonnenen Tetanus-Formoltoxoid bei Pferden durch mehrmalige Injektionen eine Grundimmunität gegen Starrkrampf zu erzielen und durch dann gesteigerte Toxingaben ein bei dem damaligen Stand der Tetanusprophylaxe als hochwertig zu bezeichnendes Tetanus-Immunserum zu gewinnen.

Das Problem der Gewinnung eines wirksamen, für den Organismus aber auch unschädlichen Impfstoffes beschäftigte auch weiterhin die Wissenschaftler - den bahnbrechenden Fortschritt erzielte aber erst in den Jahren 1923 - 1925 R A M O N in Zusammenarbeit mit D E S C O M B E Y und

LEMETAYER. Analog der bei der Entgiftung des Diphtherietoxins geübten Methode, Formol zusammen mit Wärme auf das Toxin einwirken zu lassen, benutzten RAMON und seine Mitarbeiter ebenfalls Formol und Wärme zur Herstellung eines Tetanusantitoxins. Dadurch, daß bei seiner Gewinnung nur verhältnismässig kleine Mengen von Formaldehyd zusammen mit Wärme verwendet wurden, erfolgte die Umwandlung des Tetanustoxins in Tetanusanatoxin so schonend, daß das entgiftete Toxin seine antigenen Eigenschaften in vollem Umfang beibehielt. Damit war die Möglichkeit der aktiven Immunisierung gegen Tetanus gegeben, und RAMON und seine Mitarbeiter waren es auch, die ein in der Praxis einfach und erfolgreich durchführbares Verfahren schufen. Es bestand in der in Abstand von einem Monat zweimal subcutan durchgeführten Injektion des Anatoxins, der die sogenannte "Rappel-Injektion" nach einem Jahr folgte. Diese Methode verlieh den so behandelten Pferden eine mehrjährige Tetanus-Immunität. Das bedeutete gegenüber der passiven Immunisierung mit Tetanusserum einen so erheblichen Vorteil, daß die französische Militärverwaltung vom Jahre 1928 an die aktive Schutzimpfung gegen Tetanus nach der Methode RAMON's bei den Militärpferden durchführen ließ. Um die Resorption des gleichsam als Depot geimpften Anatoxins zu verlangsamen und seine antigene Kraft zu stimulieren, wurde es von den einzelnen Forschern mit den verschiedenen Stoffen versetzt, von denen hier Tapicka, Saponin, Lanolin, Kalialaun und CaCl_2 nur am Rande erwähnt seien, während auf Aluminiumhydroxyd besonders hingewiesen werden muß. SCHMIDT und HANSEN verwendeten diesen Stoff zunächst lediglich zur Reinigung des Tetanustoxins durch Adsorption mit nachfolgender Elution in einem geeigneten Milieu, wobei sich aber eine gesteigerte Empfindlichkeit des gereinigten Toxins gegen Formol ergab. Bei Adsorption des Tetanusantitoxins an Aluminiumhydroxydgel aber ergab sich zumindest die gleiche Immunitätswirkung wie bei der Verwendung eines durch Praecipitation mit Alaun gewonnenen Impfstoffes, weshalb WOLTERS und DEHMEL in dieser Richtung weiter experimentierten und im Verlauf ihrer vom Jahre 1932 bis 1933 sich erstreckenden umfangreichen Versuche an Mensch und Tier einen Tetanus-Aluminium-Adsorbat-Depot-Impfstoff schufen, der unter Verwendung des in Deutschland an Stelle von Anatoxin benutzten Ausdruckes Toxoid als Tetatoxoid bezeichnet wurde.

Mit diesem Tetatoxoid ließen sich nicht nur so hohe Antitoxinwerte erzielen, daß eine völlige Immunität eintrat, sondern es ließen sich auch Versuche zur Klärung der Frage durchführen, wie sich der Immunitätsablauf nach der Vaccination mit Tetatoxoid gestaltet. Dabei stellte sich überzeugend heraus, daß

schon bei einmaliger, spätestens aber nach zweimaliger Impfung mit dem Aluminiumadsorbat-Impfstoff der gewünschte Impfschutz eintrat. Weitere Untersuchungen über die Dauer dieses Impfschutzes ergaben nun, daß die Antitoxinbildung dann erheblich gesteigert werden konnte, wenn nach der zweimaligen Impfung mit Tetatoxoid eine dritte Injektion nach Verlauf weiterer 6 bis 12 Monate vorgenommen wurde, und W O L T E R S und F I S C H O E - D E R gelang es nachzuweisen, daß beim Menschen nach zweimaliger Impfung mit Tetatoxoid im Abstand von vier Wochen eine über mehr als ein Jahrzehnt bestehende Immunität gegen Tetanus eintritt, die höchstwahrscheinlich sogar lebenslänglich bestehen bleibt. Zwar sinkt der Antitoxintiter im Laufe der Jahre erheblich ab, doch bleibt sowohl beim Tier als auch - wie W O L - T E R S im Selbstversuch nachgewiesen hat - beim Menschen der aktive Impfschutz dann, wenn die Grundimmunisierung durch zwei in Abstand von 4 Wochen erfolgte Impfungen mit Tetanustoxoid vorgenommen war, jahrelang bestehen.

3. Das Vorkommen von natürlichem Tetanusantitoxin.

Bereits im Jahre 1909 war R Ö M E R der Nachweis des Vorkommens von natürlichem Tetanus-Antitoxin im Blute vom Rind gelungen, und R A M O N und L E M É T A Y E R bestätigten später die Richtigkeit dieser Feststellung. Auch bei Pferden konnten W O L T E R S und D E H M E L in einigen wenigen Fällen Tetanus-Normal-Antitoxin konstatieren. Dagegen gelang es nicht, natürliches Antitoxin bei Hunden, Schweinen und Fohlen festzustellen; letztere wiesen jedoch in vielen Fällen bereits wenige Tage nach der Geburt Tetanus-Antitoxin auf, das dem jungen Tier auf dem Wege über die Kolostralmilch vom immunen Muttertier zugeführt wird. Eine Bestätigung hat diese Ansicht durch die Untersuchungen von B A R D E L L Y gefunden, der bei einem Fohlen, dessen Muttertier in der letzten Trächtigkeits-Epoche hyperimmunisiert worden war, unmittelbar nach der Geburt kein Antitoxin fand, so daß wohl der berechnigte Schluß gezogen werden kann, daß die Tetanus-Antigene des Schutzgeimpften Muttertieres nicht aus dem Kreislauf der Stute über die Plazenta zum Fötus gelangen. Die passive Immunisierung, die in gleicher Weise bei Fohlen und Kälbern für einen kurzen Zeitraum nach der Geburt festgestellt werden konnte, erfolgt also durch perorale Zuführung der Antikörper mittels der Milch, und zwar hauptsächlich der Kolostralmilch. Auch S E E M Ü L L E R kommt auf Grund seiner an Schweizer Rindern angestellten

Untersuchungen zu dem gleichen Ergebnis.

Über die Entstehung des Tetanus-Antitoxins im Tierkörper wurden verschiedene Theorien aufgestellt. Nach R A M O N, dem sich P O C H O N anschließt, soll sich im Pansen von Wiederkäuern, die häufig mit ihrer Nahrung Tetanusbazillen aufnehmen, durch Zellulosevergärung das Tetanustoxin in ein Toxoid umbilden, das nach erfolgter Resorption seine antigene Wirkung ausübt.

Darauf, daß R O L L E und K A L I C H sowohl im Tierversuch, als auch in einem speziellen Fall originär den Nachweis einer Tetanus-Infektion aus dem Darmkanal bei gleichzeitigem Vorliegen einer Coliseptikämie erbracht haben, ist bereits eingangs hingewiesen worden.

4. Die Entstehung des Tetanus-Antitoxins.

Wird zum Zwecke der aktiven Immunisierung gegen Starrkrampf Aluminium-Adsorbatimpfstoff verwendet, so bewirkt das die Rolle eines Adjuvans spielende $Al(OH)_3$ einmal in Folge seiner die Resorption verzögernden Wirkung die Bildung eines Impfstoff-Depots im Organismus, zum anderen aber gleichzeitig auch eine Umstimmung bzw. Aktivierung der die Antikörper produzierenden Zellen. Während bei der passiven Serum-Immunisierung dem infizierten Organismus mit dem Serum die zur Abwehr der Krankheit erforderlichen Antikörper selbst zugeführt werden, werden bei der aktiven Toxoid-Immunisierung die körpereigenen Zellsysteme mobilisiert und zur Bildung von Antikörpern angeregt. Darüber, wie dieser Vorgang sich vollzieht, und in welchen Organen - Leber, Milz oder Lymphsystem - er stattfindet, ist in der Wissenschaft noch keine einhellige Meinung zu finden. Immerhin dürften aber die unter Verwendung von Isotopen durchgeführten neuesten Versuche deutlich gemacht haben, daß die Bildung der Antikörper intrazellulär bei gleichzeitiger Mitwirkung bestimmter Enzyme im reticuloendothelialen System erfolgt. Dabei wird von dem Aluminiumzusatz des Toxoids bei subcutaner Injektion ein Entzündungsreiz ausgeübt, der - wahrscheinlich auf endokrinem Wege - nach den Feststellungen von P R I G G E stimulierend auf die die Antikörper bildenden Zellen und damit auf die Antitoxin-Ausschüttung überhaupt wirkt. Daß das Tetanus-Antitoxin durch Adsorption an Aluminium-Verbindungen eine mindestens 70-fache Steigerung seiner antigenen Wirksamkeit gegenüber dem nativen Formoltoxoid erfährt, ist ebenfalls von P R I G G E

nachgewiesen worden.

Der Weg nun, auf dem so beim Menschen nach der Impfung mit Adsorbat-Impfstoff die Starrkrampf-Immunität herbeigeführt wird, ist nach den umfassenden Untersuchungen von W O L T E R S und F I S C H O E D E R folgender:

Auf den durch die Injektion von Adsorbat-Impfstoff - in diesem Falle Tetatoxoid - gesetzten spezifischen Antigenreiz erfolgt zunächst in nur wenigen Fällen bereits eine messbare Ausschüttung von Antitoxinen, - festzustellen ist aber stets eine zunehmende symptomlose Umstimmung der die Antikörper produzierenden Zellen.

Während dieser Umstimmung werden aber die Antikörper zumindest schon vorgebildet, so daß bereits wenige Tage nach der zweiten Impfung die durch diese freigesetzten Antikörper einen sich ständig steigenden Antitoxintiter im Blut herbeiführen. Dieser hatte bei den Versuchen nach Ablauf von 2 - 3 Wochen einen durchschnittlichen Wert von 0.1 bis 0.5 IE/ ccm erreicht, der bis zur zwölften Woche bis zu 1.0 IE/ccm und darüber stieg. Monatelang hielt sich der Antitoxintiter auf dieser Höhe, um dann zunächst verhältnismässig schnell, später aber langsamer abzufallen. Immerhin konnten aber noch dreieinhalb Jahre lang bei etwa 75 % der Impflinge Werte von 0.01 IE/ ccm gemessen werden.

Wenn nun weiterhin auch im Laufe der Jahre der Antitoxintiter die unterste Grenze der Nachweisbarkeit erreicht, bzw. noch unterschritten hat, so bleibt doch - wie zahlreiche Untersuchungen und vor allem auch der kühne Selbstversuch von W O L T E R S bewiesen haben - der aktiv Schutzgeimpfte Organismus in der Lage, auf einen durch Intoxikation gesetzten antigenen Reiz sofort mit der Ausschüttung von Antitoxin mit Hilfe seiner bereits durch die Grundimmunisierung umgestimmten Zellen zu reagieren. Ob der antigene Reiz von einer Wiederholungsimpfung oder einer natürlichen Infektion mit Starrkrampf-Bazillen ausgeht, ist gleichgültig, weil durch die Grundimmunisierung das die Antikörper bildende Zell-System in einen Zustand dauernder Abwehrbereitschaft versetzt worden ist und deshalb auch auf den geringsten spezifischen Reiz antitoxisch reagiert.

Selbstversuche und langjährige Untersuchungen haben deshalb auch W O L T E R S und F I S C H O E D E R zu der heute wohl unbestrittenen Ansicht geführt, daß die Immunität gegen den Starrkrampf nach aktiver Schutzimpfung nicht nur solange anhält, wie ein noch messbarer Antitoxintiter im Blut vor-

handen ist, sondern daß der Impfschutz so lange wirksam ist, wie der mit Tetanus infizierte Organismus imstande ist, auf die Tetanusintoxikation schnellstens mit einer das eingedrungene Starrkrampfgift neutralisierenden Antitoxin-Ausschüttung zu antworten.

Dieser Grad von Abwehrbereitschaft eines Körpers, der in der Immunitätsforschung als "potentielle Immunität" bezeichnet wird, kann beim Menschen und - wie die Versuche mit Pferden ergeben haben - auch beim Tier mittels der geschilderten Grundimmunisierung mit prophylaktischer Wiederholungsimpfung bei Verdacht einer natürlichen Wundinfektion erreicht werden, und die sich bereits über Jahrzehnte erstreckenden Beobachtungen lassen die Vermutung zu, daß das Verfahren der aktiven Immunisierung geeignet ist, dem Organismus lebenslänglich Schutz gegen Starrkrampf zu bieten.

5. Die Antitoxinwerte nach Impfung mit Tetanus-Toxoid bei Menschen und Pferden.

Wenn auch praktische Versuche und darauf gestützte theoretische Erwägungen zu dem Ergebnis geführt hatten, daß als Ausdruck erworbener Immunität weniger die Höhe des Antitoxingehaltes im Blut, als vielmehr die sofort gesteigert einsetzende Antikörper-Ausschüttung zu werten ist, so erforderte doch die wissenschaftliche Prägnanz, ohne die eine zielbewußte Forschung nicht durchgeführt werden kann, genauere Feststellungen des Antitoxintiters vor und nach den Schutzimpfungen. Dabei konnte ganz allgemein festgestellt werden, daß für den bei der aktiven Immunisierung erzielten Antitoxintiter bei Mensch und Tier eine Reihe anderer Faktoren mitbestimmend sind, z.B. Alter und Ernährungszustand, Menge des applizierten Toxoides und Dauer der Intervalle zwischen den einzelnen Impfungen.

Von den zahlreichen Versuchen interessieren im Rahmen dieser Abhandlung u.a. diejenigen von S A X I N G E R und H E I N I G, die ihre Versuchstiere bereits 12 Tage nach einer mit 5,0 ccm Tetanustoxoid-Aluminiumadsorbat-Impfstoff durchgeführten Schutzimpfung mit 3 DLM Tetanustoxin infizierten. 52 der so geimpften Pferde zeigten keinerlei tetanische Reaktionen, während 16 nicht schutzgeimpfte Pferde auf die zweifache tödliche Dosis von Tetanustoxin bereits nach 4 - 5 Tagen mit den Symptomen schwerster Tetanie reagierten und getötet werden mußten.

T E I C H M A N N untersuchte den Antitoxintiter von Pferden, die mit Te-

tanusadsorbat-Impfstoff schutzgeimpft worden waren, und fand nach der ersten Impfung für längere Zeit einen Titer von ungefähr einer Immunitäts-einheit vor, der erst nach der zweiten Impfung innerhalb weniger Tage in einzelnen Fällen bis zu 75 Immunitäts-Einheiten hochschnellte.

Auch W A I B E L untersuchte die Tetatoxoidauswirkung auf den Antitoxin-gehalt im Blut der Pferde und konnte bei zweimaliger Impfung mit je 5,0 ccm Tetatoxoid zehn Tage nach der ersten Impfung nur bei 4 von 15 Pferden einen Antitoxintiter von 0.0015 IE/ccm nachweisen. Es zeigten sich aber bereits nach 15 Tagen Werte von 0.01 - 0.07 und nach 30 Tagen solche von 0.25 - 3.0 IE/ccm. 10 Tage nach der zweiten Impfung erreichte der Anti-toxintiter bei den Versuchstieren Höchstwerte bis zu 20.0 IE/ccm, um vom 30. Tage an eine rückläufige Tendenz aufzuweisen, die zu einem Absinken der Werte bis zur Hälfte des jeweiligen Maximums führte.

W O L T E R S und D E H M E L hatten im Laufe ihrer sich über Jahr-zehnte erstreckenden Untersuchungen ebenfalls den Immunitätsablauf bei Menschen und Tieren untersucht, wobei sie den Antitoxintiter in gewissen Zeitabständen nach der ersten und zweiten Injektion von Tetatoxoid-Adsorbatimpfstoff bestimmten. Dabei erhab sich bei Menschen die - hier nicht näher zu untersuchende - Tatsache, daß vor der ersten Impfung ein natürlicher Antitoxingehalt entweder überhaupt nicht oder nur in kaum messbarer Höhe vorhanden war und daß nach der ersten Applikation von 0.5 ccm Tetatoxoid der Antitoxintiter im Blute innerhalb von 4 Wochen nur langsam bis auf höchstens 0.0025 IE/ccm anstieg, daß aber die anschließend ausgeführte zweite Impfung mit der gleichen Toxoid-Dosis in den nun folgenden 4 Wochen zu einem raschen Anstieg des Antitoxintiters bis zu 0.5 IE/ccm führte, worauf ein langsames Absinken bis zu 0.005 IE/ccm binnen Jahresfrist festgestellt werden konnte.

Demgegenüber ergaben die auf der breiten Basis von 96 Pferden angelegten Versuche zunächst bei 16 Tieren das Vorhandensein natürlichen Antitoxins bereits vor der ersten Impfung, und zwar konnte ein Gehalt von 0.01 - 1.9 IE/ccm festgestellt werden.

3 Wochen nach der ersten Impfung mit 5.0 ccm Tetanus-Alaunpräzipitat-Toxoid wurde folgender Antitoxingehalt im Blute der Versuchstiere ermittelt:

bei 12 Pferden von 0.0015	-	0.01 IE/ccm
" 6 " von 0.01	-	0.2 IE/ccm
" 46 " von 0.2	-	2.0 IE/ccm
" 20 " von 2.0	-	10.0 IE/ccm.

Schon 3 Wochen nach der ersten Impfung wiesen somit diese Tiere trotz individueller Verschiedenheit einen teilweise recht erheblichen Antitoxintiter auf, der bei denjenigen Pferden am höchsten war, die schon natürliche Antikörper besessen hatten. Die dadurch manifestierte schnelle Abwehrbereitschaft ihrer Organismen führte zu verstärkter Antitoxin-Ausschüttung, weil der spezifische Reiz ein bereits auf natürlichem Wege umgestimmtes Zellsystem erreichte.

7 - 10 Wochen nach der zweiten Impfung konnte nur folgender Antitoxingehalt ermittelt werden:

bei 1 Pferd	0.005	IE/ccm
" 2 Pferden	0.01 - 0.05	IE/ccm
" 16 "	0.25 - 0.5	IE/ccm
" 23 "	0.55 - 1.0	IE/ccm
" 21 "	1.25 - 1.5	IE/ccm
" 11 "	1.75 - 2.0	IE/ccm
" 3 "	2.25 - 2.5	IE/ccm
" 7 "	3.0 - 5.0	IE/ccm.

Im Gegensatz zur ersten Impfung, die ganz allgemein zu einem beträchtlichen Ansteigen des Antitoxintiters geführt hatte, ergab die zweite Impfung keine auffällig erhöhten Werte, ließ aber erkennen, daß bei den Tieren, die bereits vor der ersten Impfung Tetanus-Normal-Antitoxin aufgewiesen hatten, keine weitere Steigerung, sondern ein allmählicher Abfall des Antitoxingehaltes eingetreten war.

Ein weiterer Versuch, bei dem Pferde mit einer Dosis von 10.0 ccm Tetanus-Alaunpräzipitativstoff zweimal im Abstand von 3 1/2 Monaten Schutzgeimpft wurden, ergab, daß die Vergrößerung des Intervalles auch zu einer verstärkten Antitoxinbildung geführt hatte.

III. Eigene Untersuchungen.

1. Tiermaterial.

Als Versuchstiermaterial standen mir 12 Schweine im Alter von 5 Monaten bis zu 1 1/2 Jahren zur Verfügung, die den Rassen "Veredeltes Landschwein", "Schwäbisch-Hällisches Schwein" und "Cornwall" angehörten. Die Tiere gehörten zum Bestand einer Mastanstalt, waren aber für die Dauer der Versuche nicht zur Mast gestellt, sondern erhielten nur die Futtermenge, die zur Erhaltung einer für die Zucht günstigen Kondition nötig ist. Wenn die Tiere trotzdem günstige Gewichtszunahmen verzeichneten, so hatte das seine Ursache in der Güte des verabreichten Futters, das aus den Abfällen amerikanischer Hotelküchen bestand. Es setzte sich aus teilweise sehr eiweißreichen, kohlenhydrat- und fetthaltigen Speiseresten zusammen und öfters waren in dem Futter auch reichliche Mengen von Frischgemüse, Obst und Südfrüchten enthalten.

Untergebracht waren die Versuchstiere in einem ca. 25 m langen Stall von fast 3 m lichter Höhe, dessen Längsseiten mit mehreren grossen Fenstern versehen sind und an dessen Mittelgang sich die einzelnen Boxen befinden. Der Boden des Stalles ist mit Bohlen gedeckt und die einzelnen Boxen gestatten den Tieren die nötige Bewegungsfreiheit. Der Auslauf für die Schweine erstreckte sich bis an einen Bach, so daß die Tiere sich während ihrer Bewegung im Freien auch suhlen konnten.

Weitere wissenswerte Einzelheiten ergeben sich aus der beigelegten Übersichtstafel; erwähnt sei hier nur noch, daß die Schweine No.2, 3, 4 und 12 14 Tage vor Versuchsbeginn gedeckt worden waren.

Sowohl die erste Blutentnahme, die der Bestimmung des natürlichen Antitoxingehaltes dienen sollte, als auch die Impfungen und die weiteren Blutentnahmen erfolgten jeweils in den Nachmittagsstunden.

Das Blut wurde jeweils aus einer der Ohrvenen entnommen, während die Injektionen subcutan ins lockere Bindegewebe des rechten Ohres appliziert wurden.

Als Impfstoff wurde "Tetatoxoid - Asid" des Asid-Institutes München-Neuherberg verwandt, und die Dosierungen betrugen für Schweine bis zu 80 kg 1,0 ccm pro Injektion, für schwerere Tiere 2,0 ccm p.I.

Der ersten Blutentnahme, die zum Zwecke der Prüfung des Blutserums auf natürlichen Antitoxintiter vorgenommen wurde, folgte unmittelbar die erste Schutzimpfung, worauf nach Ablauf von 10, 15 und 30 Tagen weitere Blutentnahmen durchgeführt wurden. Anschließend an die letzte dieser Entnahmen erfolgte die zweite Schutzimpfung, und am 10. und am 30. Tage nach der zweiten Injektion wurde wieder Blut entnommen. Am 4. bzw. 5. Tage nach der Impfung reagierten die Impflinge mit kirschgrossen Schwellungen an den Impfstellen.

Temperaturanstieg konnte ebensowenig festgestellt werden wie irgendwelche Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens; die Freßlust war auch nicht gemindert.

T a b e l l e I

Übersichtstafel über das Schweine-Untersuchungsmaterial.

No.	Geschlecht	R a s s e	Alter	Ge- wicht	Ge- wicht n. 1 Mt.	Impf- Dosis
1	w.	veredelt.Landschw.	1/2 J.	70kg	88 kg	1.0
2	m.	" "	1 1/2 J.	53 "	73 "	1.0
3	w.	" "	1 1/2 J.	53 "	67 "	1.0
4	m.	" "	5 Mt.	51 "	67 "	1.0
5	m.	" "	5 Mt.	52 "	73 "	1.0
6	w.	" "	5 Mt.	45 "	65 "	1.0
7	w.	" "	5 Mt.	45 "	61 "	1.0
8	w.	Cornwall	1 J.	75 "	93 "	1.0
9	w	veredelt.Landschw.	3/4 J.	153 "	183 "	2.0
10	w.	Schwäb.Häll.Schw.	1 J.	121 "	140 "	2.0
11	w.	" " "	1 J.	80 "	102 "	2.0
12	m.	veredelt.Landschw.	1 1/2 J.	222 "	232 "	2.0

2. Methodik.

Das zu untersuchende Serum der Schweine wurde durch Zentrifugieren des gewonnenen Blutes gewonnen, durch Zusatz einer Merthiolatlösung 1 : 10.000 konserviert und bis zur Prüfung im Kühlschrank aufbewahrt.

Dem von mir bei der Antitoxinbestimmung angewandten Verfahren legte ich eine von F I S C H O E D E R entwickelte Methode zugrunde, die insofern eine Modifikation der D E H M E L ' S C H E N Methode darstellt, als bei ihr im Versuchsansatz die Toxinmenge stets in gleicher Höhe beibehalten, der Serumzusatz dagegen variiert wird. Um die Bestimmung auch niedrigster Antitoxinwerte zu ermöglichen, werden bei diesem Verfahren zwei in Vorversuchen ermittelte Testdosen Tetanustoxin verwendet, deren eine (I) zur Bestimmung von relativ hohen Antitoxinwerten (etwa über 1 IE/ccm), deren andere (II) aber der Bestimmung geringer Antitoxinwerte dient. Die beiden Testdosen werden in den Versuchsansatz stets in gleichen Volumen (0,2 ccm) eingebracht, die Serummenge dagegen wird variiert. Je grösser die zur Neutralisation der Toxindosis notwendige Serummenge ist, desto niedriger ist die Antitoxinkonzentration.

Das Tetanustoxin ist ein unter Vacuum aufbewahrtes Trockentoxin, das im A S I D - Institut hergestellt wurde. Dieses Rohtoxin ist in Lösung ausserordentlich licht-, stoß- und sauerstoffempfindlich, und da es gelöst ausserordentlich schnell an Wirksamkeit verliert, müssen bei jedem Ansatz einer Versuchsreihe für die Antitoxinbestimmungen die Toxinlösungen frisch aus dem Rohtoxin hergestellt werden. Als Lösungsmittel für das Toxin, als Verdünnungsmittel für das Serum und als Puffer wird Pepton-Jensen-Lösung verwendet, deren Zusammensetzung als bekannt vorausgesetzt werden darf. Die Toxinlösung I in Phosphatpuffer pH 7,36 enthält in 1 ccm 3125 für eine Maus von 14 g tödliche Dosen (DLM), in 0,2 ccm demnach 625 DLM. Diese Toxindosis wird von 0,031 IE des Standardserums (Paul-Ehrlich-Institut Frankfurt) soweit neutralisiert, daß ein nichtneutralisiertes Resttoxin von etwa 2,5 DLM wirksam bleibt.

Werden von dem Ansatz

0,25 ccm Standard-Serum 0,125 IE/ccm

0,55 ccm Phosphat-Puffer pH 7,36

0,2 ccm Testtoxin = 625 DLM

1,0 ccm

0,4 ccm einer Maus injiziert, so erhält sie eine DLM nicht neutralisiertes

Toxin, erkrankt nach etwa 20 Stunden an einem fortschreitenden lokalen Tetanus und stirbt unter den Symptomen eines generalisierten Tetanus nach etwa 90 - 96 Stunden.

Beurteilt wird der jeweilige Grad der Intoxikation der Mäuse nach folgenden Symptomen:

- | | | |
|-------------------|---------------------|--|
| a) | Spürchen
(Spch) | = Zucken eines Beines, das beim Hochhalten der Maus am Schwanz deutlicher wird. Dabei sind die Zehen geschlossen. (Injektionsseite) |
| b) | Spur
(Sp) | = Das Bein ist leicht gestreckt, der Lauf dadurch leicht behindert. Der Schwanz wird nach der Injektionsseite hin gestreckt. |
| c) | leicht
(l) | = Das Rückgrat ist leicht gekrümmt, der Lauf stärker behindert, das Bein schleift leicht nach. |
| d) | deutlich
(dtl) | = Nun ist das ganze Bein steif geworden und wird nach hinten gestreckt, die Maus ist nicht mehr voll beweglich. |
| a) - d) | | = <u>lokaler Tetanus</u> |
| e) | stark
(st) | = Das Rückgrat ist bogenförmig nach der Injektionsseite gekrümmt, das Bein wird steif gehalten. Die Maus kann sich nur noch im Kreise bewegen. |
| f) | sehr stark
(sst) | = Die Maus kann sich fast nicht mehr bewegen, in Rückenlage gebracht, sich nicht mehr umdrehen. |
| e) - f) | | = <u>generalisierter Tetanus</u> |
| moribund
(mor) | | = Die Maus ist im Verenden. |
| + | | = tot |
| Ø | | = keine tetanischen Symptome wahrnehmbar, glatt. |

Die Toxinlösung II, die hundertmal weniger Toxin als die Toxinlösung I enthält, und deren entsprechende Standardserum-Verdünnung 0.00125 IE/ccm beträgt, wird an jedem Versuchstage frisch aus Kohtoxin hergestellt. Gemische aus 0.25 ccm Standardserumverd. + 0.2 ccm Toxinlösung werden 1/2 Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert, 0.4 ccm der Gemische werden dann je einer

Maus injiziert. Im Protokoll werden diese Mäuse kurz als "Standardmäuse" I und II bezeichnet. Ausserdem wird eine Maus mit 0.4 ccm der 1 : 2.5 verdünnten Toxinlösung II geimpft zur Kontrolle der Toxinwirksamkeit.

Bei der eigentlichen Antitoxinbestimmung an den zur Prüfung gestellten Seren tritt im Versuchsansatz einfach an die Stelle des Standardserums das Prüfungsserum in einer Menge, die sich nach dem mutmaßlichen Antitoxingehalt richtet. Vermutet man z.B. im Serum X einen Wert von 0.00125 IE/ccm, so wird 0.2 ccm Toxinlösung II mit 0.25 ccm des Serums I gemischt. Verläuft der Tetanus der damit geimpften Maus ebenso wie bei der "Standard-Maus" II, so enthält das Serum gerade etwa 0.00125 IE/ccm, ist der Verlauf leichter, so ist an einem folgenden Versuchstage die Prüfung auf einen doppelten oder fünffachen Wert notwendig, d.h. man verwendet dann $0.25 : 2 = 0.125$ ccm, bzw. $0.25 : 5 = 0.05$ ccm Serum X für den 1-ccm Ansatz.

War der Verlauf aber schwerer, wird auf 0.005 IE/ccm geprüft, der Ansatz wäre dann:

Serum X	0,6 ccm
Puffer	0,2 ccm
Toxinlösung II	0,2 ccm.

Durch Interpolation können unter Umständen Zwischenwerte ermittelt werden.

Da bereits die ersten Versuchsansätze erkennen liessen, daß nur verhältnismässig geringe Antitoxinmengen nachzuweisen sein würden, wurden sämtliche Untersuchungen mit Versuchsansätzen durchgeführt, die nur die Toxinlösung II, d.h. also den um das Hundertfache verdünnten Toxingehalt der Lösung I aufwiesen.

Das Verfahren zur Bestimmung des Antitoxintiters der zu prüfenden Seren besteht mithin in einem Vergleichen des Krankheitsverlaufes bei Mäusen, von denen einigen eine bestimmte Menge Tetanustoxin injiziert wird, die durch eine bestimmte Standardantitoxin-Dosis teilweise neutralisiert wird, während andere mit einem Gemisch geimpft werden, das die gleiche Menge Tetanustoxin, an Stelle des Standardantitoxins aber die entsprechende Menge des zu prüfenden Serums enthält.

Das Ergebnis der einzelnen Prüfungen wurde protokollarisch festgehalten, und da die Wiedergabe der gesamten Untersuchungsbefunde und Protokolle den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, sollen nachfolgend zur Anschaulichmachung der Methodik nur einige der Protokolle wiedergegeben werden, die

sich mit einer bestimmten Anzahl von Versuchstieren in bestimmten Zeitpunkten ihrer Immunisierung beschäftigen.

3. Eigene Versuche.

a) Antitoxintiter der Versuchstiere No. 6 - 9 vor der ersten Impfung.

Zunächst wurden die Seren sämtlicher Versuchstiere auf einen etwa vorhandenen natürlichen Antitoxingehalt untersucht und zwar wurden vor der ersten Impfung Blutproben entnommen und nach der geschilderten Methode geprüft. Gleichzeitig wurden Kontrollversuche mit einem Toxin-Standardserumgemisch zum Vergleich durchgeführt, und ebenso wurde vorsorglich auch die jeweils verwandte Toxinlösung einer Kontrolle ihrer Wirksamkeit unterzogen. Als Beispiel wird nachstehend aus der Vielzahl der hierzu angelegten Protokolle dasjenige wiedergegeben, welches sich mit den Versuchstieren No. 6 bis 9 sowie den entsprechenden Standard- und Toxinkontrollmäusen beschäftigt und aus dem sich - um dies vorwegzunehmen - ergibt, daß - wenn ein natürlicher Antitoxintiter überhaupt vorhanden gewesen sein sollte - er den niedrigsten, gerade noch messbaren Wert vom 0.0005 IE/ccm nicht erreicht haben konnte. (cf. Protokoll I).

Protokoll I

Schweine No.	Verrut. Antito- xin-Titer	A n s a t z			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer cc	Toxin- Lösung II ccm	1	2	3	4	5	6	
6/0	0.0005	0.6	0.2	0.2	Sp.	dtl.	+	-	-	-	< 0,0005
7/0	0.0005	0.6	0.2	0.2	Ø	dtl.	mor.	-	-	-	< 0.0005
8/0	0.0005	0.6	0.2	0.2	l.	st.	+	-	-	-	< 0.0005
9/0	0.0005	0.6	0.2	0.2	l.	st.	+	-	-	-	< 0.0005
Stand.S.	0.00125	1:4000			Ø	l.	st.	+	-	-	
Toxin- Kontrolle	-	-	0.92	0.08	Sp.	st.	st.	+	-	-	

Versuche mit 6/0 bis 9/0 wiederholt ergaben gleiche Ergebnisse.

Diese zur Prüfung des natürlichen Antitoxingehaltes angesetzten Versuche wurden mehrfach wiederholt und führten jedesmal zum gleichen Ergebnis, wodurch die Richtigkeit des Resultates erwiesen sein dürfte.

Die die Versuchstiere No. 1 bis 5 und No. 10 bis 12 betreffenden Protokolle weisen die gleichen Resultate auf, d.h. sie lassen einen messbaren Antitoxintiter ebenfalls nicht erkennen.

b) Antitoxintiter der Versuchstiere No. 6 - 9 am 30.Tag nach der ersten Impfung.

Besonders anschaulich sind die Protokolle II und III, die die Versuchsergebnisse bei den gleichen Tieren nach der Blutentnahme am 30.Tage nach der ersten Impfung mit Tetatoxoid wiedergeben, weil sie erkennen lassen, daß vermuteter und tatsächlicher Antitoxingehalt öfters noch erheblich differieren, daß manchmal aber schon zwei Versuchsansätze ausreichen können, um die Höhe des tatsächlichen Antitoxintiters einwandfrei zu ermitteln. Aus dem Protokoll II ergibt sich, daß bei dem Versuchstier No. 6 von einem vermuteten Antitoxintiter von 0,005 ausgegangen worden war, daß die Prüfung das Vorhandensein eines höheren Titers vermuten ließ, und daß der bei der daran anschliessenden zweiten Prüfung (Protokoll III) angenommene Antitoxintiter von 0,01 sich als richtig herausstellte.

Protokoll II
(I. Prüfung)

Schweine No.	Vernut. Antito- xinter	Ansatz			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer ccm	Toxin- Lösung ccm	1	2	3	4	5	6	
6/30	0,005	1:5 0,3	0,5	II 0,2	Sp.	1.	1.	dtl.	st.	+	> 0,005
7/30	0,0015	0,2	0,6	II 0,2	Sp.	1.	sst.	+	-	-	= 0,0015
8/30	0,0025	1:5 0,6	0,2	II 0,2	1.	st.	+	-	-	-	< 0,0025
9/30	0,0015	0,2	0,6	II 0,2	Spch.	dtl.	st.	+	-	-	= 0,0015
Stand.S.	0,00125	1:4000									
		0,25	0,55	II 0,2	Sp.	dtl.	sst.	+	-	-	
Toxin- Kontrolle	-	-	0,92	II 0,08	Spch.	dtl.	st.	+	-	-	

Protokoll III
(II. Prüfung)

Schweine No.	Vermut. Antito- xintiter	A n s a t z			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer ccm	Toxin- Lösung II ccm	1	2	3	4	5	6	
6/30	0,01	0,03	0,77	II 0,2	Sp.	dtl.	sst.	+	-	-	= 0,01
7/30	0,0015	0,2	0,6	II 0,2	Sp.	st.	sst.	+	-	-	= 0,0015
8/30	0,0015	0,2	0,6	II 0,2	Spch.	dtl.	st.	mor.	+	-	+ 0,0015
9/30	0,0015	0,2	0,6	II 0,2	l.	st.	sst.	+	-	-	= 0,0015
Stand.S.	0,00125	1:4000									
		0,25	0,55	II 0,2	l.	dtl.	st.	+	-	-	
Toxin- Kontrolle	-	-	0,92	II 0,08	Sp.	dtl.	sst.	+	-	-	

Als weitere Beispiele werden nachfolgend noch die Protokolle IV bis VII wiedergegeben, die sich mit der Feststellung des Antitoxintiters im Serum der gleichen Versuchstiere No. 6 bis 9 am 30. Tage nach der zweiten Impfung beschäftigen.

Protokoll IV
(I. Prüfung)

Schweine No.	Vermut. Antito- xintiter	A n s a t z			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer ccm	Toxin- Lösung II ccm	1	2	3	4	5	6	
6/60	0,05	1:5 0,03	0,77	II 0,2	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	0,05
7/60	0,5	1:1000 0,62	0,18	II 0,2	l.	dtl.	+	-	-	-	0,5
8/60	0,1	1:100 0,3	0,5	II 0,2	l,	st.	sst.	+	-	-	= 0,1
9/60	0,1	1:100 0,3	0,5	II 0,2	Sp.	dtl.	sst.	+	-	-	= 0,1
Stand.S.	0,00125	1:4000 0,25	0,55	II 0,2	Sp.	dtl.	st.	+	-	-	
Toxin Kontrolle	-	-	0,92	II 0,08	Spch.	st.	st.	+	-	-	

Protokoll V
(II. Prüfung)

Schweine No.	Vernut. Antito- xinitter	A n s a t z			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer ccm	Toxin- lösung II ccm	1	2	3	4	5	6	
6/60	0,5	1:1000 0,62	0,18	II 0,2	1.	+	-	-	-	-	< 0,5
7/60	0,1	1:100 0,3	0,5	II 0,2	Ø	1.	dtl.	dtl.	st.	mor.	> 0,1
8/60	0,1	1:100 0,3	0,5	II 0,2	1.	st.	sst.	+	-	-	= 0,1
9/60	0,1	1:100 0,3	0,5	II 0,2	Sp.	dtl.	sst.	+	-	-	= 0,1
Stand.S.	0,00125	1:4000 0,25	0,55	II 0,2	Sp.	dtl.	st.	+	-	-	
Toxin Kontrolle	-	-	0,92	II 0,08	Spch.	st.	st.	+	-	-	

Protokoll VI
(III.Prüfung)

Schweine No.	Vermut. Antitox. Titer	A n s a t z			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer ccm	Toxin- Lösung II ccm	1	2	3	4	5	6	

6/60	0,1	1:100 0,3	0,5	II 0,2	Sp.	Sp.	1.	dtl.	st.	sst.	> 0,1
------	-----	--------------	-----	--------	-----	-----	----	------	-----	------	-------

7/60	0,25	1:1000 0,125	0,675	II 0,7	Sp.	1.	sst.	+	-	-	= 0,25
------	------	-----------------	-------	--------	-----	----	------	---	---	---	--------

Protokoll VII
(IV.Prüfung)

Schweine No.	Vermut. Antotox. Titer	A n s a t z			Beobachtete Tage						Ergebnis
		Serum ccm	Puffer ccm	Toxin- Lösung II ccm	1	2	3	4	5	6	

6/60	0,25	1:1000	0,675	II 0,2	1.	1.	sst.	+	-	-	= 0,25
------	------	--------	-------	--------	----	----	------	---	---	---	--------

Aus diesen Niederschriften ist ersichtlich, daß z.B. bei den Versuchstieren No. 8 bis 9 (Protokoll IV) bereits das erste Untersuchungsergebnis die Richtigkeit des angenommenen Antitoxintiters von 0,1 IE/ccm ergab, und daß auch die vorsorglich nochmals durchgeführte Untersuchung zu den gleichen Ergebnissen führte (Protokoll IV und V). Da mit den Prüfungsansätzen der Protokolle IV und V die Höhe des Antitoxintiters im Serum der Versuchstiere No. 6 und 7 noch nicht einwandfrei festgestellt worden war, mußten die Untersuchungen unter Annahme niedrigerer Werte fortgesetzt werden, wozu die Versuchsansätze der Protokolle VI und VII nötig waren. Auf diese Weise wurden die Resultate erzielt, die aus den auszugsweise wiedergegebenen Protokollen ersichtlich sind.

c) Gesamtergebnisse der Untersuchungen.

In der nachstehend wiedergegebenen Tabelle II sind nun die Antitoxinwerte enthalten, die sich für sämtliche Versuchstiere aus den einzelnen Protokollen über die durchgeführten Seren-Untersuchungen ergeben haben. Im Interesse der Übersichtlichkeit und der Vergleichsmöglichkeit sind in der Tabelle für jedes Versuchstier die Titerwerte nebeneinander gestellt, die vor der ersten Impfung, am 10., am 15. und 30. Tage nach der ersten Impfung und am 10. und 30. Tage nach der zweiten Impfung mit Tetatoxoid festgestellt wurden.

T a b e l l e II

Tetanus - Antitoxin - Titer

bei mit Tetaxoid zweimal im Abstand von 4 Wochen
geimpften Schweinen.

Impfdosis: Ziff. 1 - 8 je 1 ccm (Gewicht + 40 kg)

Ziff. 9 - 12 je 2 ccm (Gewicht + 80 kg)

Lfd.Nr.	vor d. Impf. IE/ccm	T a g e nach <u>erster</u> Impfung IE/ccm			T a g e nach <u>zweiter</u> Impf. IE/ccm		Bemer- kungen
		10	15	30	10	30	
1	< 0,0005	< 0,0005	0,0005	0,0005	0,1	0,05	
2	"	0,0005	0,01	0,0025	10	2,0	
3	"	0,0005	0,001	0,001	1,5	0,5	
4	"	0,005	0,005	0,005	1,5	0,25	
5	"	0,0005	0,001	0,001	0,05	0,025	
6	"	0,0005	0,005	0,01	0,25	0,25	
7	"	0,001	0,001	0,0015	2,0	0,25	
8	"	0,0005	0,001	0,0015	0,5	0,1	
9	"	< 0,0005	0,001	0,0015	0,5	0,1	
10	"	0,001	0,001	0,005	0,5	0,5	
11	"	0,0015	0,005	0,0015	0,5	0,1	
12	"	0,0015	0,0025	0,05	2,0	0,25	
Arithmet.							
Mittel:		0,00096	0,00246	0,00862	1,617	0,2438	< 0,0005 wurde als "0" gerech- net.
Geometr.							
Mittel		----	0,00152	0,00304	0,661	0,1916	
Mittlere							
Abweichung:		0,00134	0,00286	0,00147	2,73	0,553	= $\sqrt{\quad}$
Vertrauens- intervall d. Mittelwerts:							
		+ 0,000842 - 0,000842	+ 0,0018 - 0,0018	+ 0,00926 - 0,00926	+ 1,710 - 1,710	+ 0,348 - 0,348	Bei einer Über- schrei- tungs- wahr- schein- lichkeit von 5%.

In der Tabelle II stehen unter den ermittelten Antitoxineinzelwerten die arithmetischen und geometrischen Mittel. Da Titer unter 0,0005 IE/ccm wegen ihrer Unmeßbarkeit als 0 gewertet wurden, war die Errechnung des geometrischen Mittels für den 10. Tag nach der ersten Impfung nicht zulässig.

Arithmetische und geometrische Mittel gehören zu den Mittelwerten, die in der biologischen und medizinischen Statistik angewendet werden, um Tatsachen zum Ausdruck zu bringen, durch die z.B. Versuchsreihen gekennzeichnet werden. Liegen nun z.B. über eine variable Größe X - im vorliegenden Falle über die Höhe des Antitoxintiters - eine Anzahl von Beobachtungen vor, aus denen sich die Werte $X_1, X_2, \dots, X_N$ ergeben haben, so stellt der N -te Teil der Summe dieser Werte das arithmetische Mittel dar. Bezeichnet man dies mit $\bar{X}$, so lautet die Berechnungsformel

$$\bar{X} = \frac{1}{N} (X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_N)$$

oder in abgekürzter Schreibweise

$$\bar{X} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N X_i$$

wobei für i nacheinander die Zahlen 1, 2, 3, ..., N zu setzen und alle X -Werte zu addieren sind.

Berechnung und Auswertung des arithmetischen Mittels einer Versuchsreihe haben aber nur dann Sinn, wenn die Streuung der Einzelwerte um einen Mittelwert mathematisch, d.h. also gleichmäßig nach der Plus- und Minusseite erfolgt, und wenn keine extremen Werte vorliegen, die das arithmetische Mittel besonders beeinflussen.

Hat man aber auch Extremwerte in die Berechnung einzubeziehen, dann bedient man sich des geometrischen Mittels, dessen Berechnung auf logarithmischem Wege erfolgt. Es wird gefunden, indem man - wenn eine Anzahl von Beobachtungen über eine variable Größe X die Werte $X_1, X_2, X_3, \dots, X_N$ erbracht haben - die N -te Wurzel aus dem Produkt aller Einzelwerte zieht.

$$G = \sqrt[N]{X_1 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot \dots \cdot X_N}$$

Um eine Versuchsreihe beschreiben oder charakterisieren zu können, benötigt man weiterhin die Kenntnis der Streuung ihrer Einzelglieder um den Mittelwert. Dazu stehen Streuungsmasse zur Verfügung, von denen hier vor allem die mittlere Abweichung interessiert, die auf das arithmetische Mittel bezogen wird. Die zu ihrer Berechnung erforderliche mathematische Formel lautet:

$$s = \sqrt{\frac{\sum z \cdot (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

Dadurch, daß hier die Abweichungen quadriert werden, treten sie stärker in Erscheinung, so daß eine geringe Abweichung im Verhältnis zu grösseren noch geringer erscheint.

Um nun noch ein Intervall abzugrenzen, innerhalb dessen bei sehr viel Wiederholungen des ganzen Versuchs Abweichungen vom Parameter noch als Zufallsabweichungen angesehen werden müssen, wurde noch das "Vertrauensintervall des Mittelwertes $\bar{X}$ " ermittelt, wobei folgende Formel nach mathematisch-statistischen Grundsätzen angewandt werden mußte:

$$\bar{X} = \pm t \frac{s}{\sqrt{N}}$$

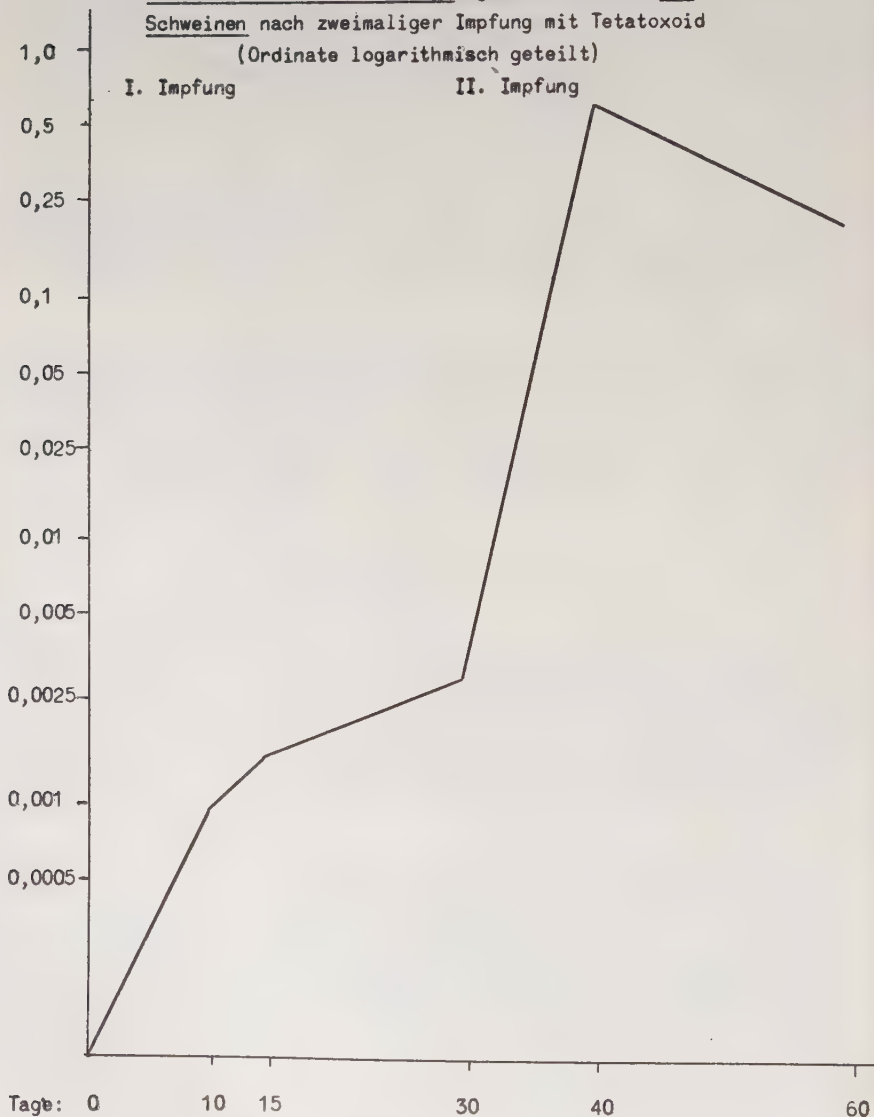
Der in dieser Formel enthaltene Multiplikationsfaktor "t" macht das Ergebnis einer so kleinen Stichprobe, wie 12 Schweine sie darstellen, für die Grundgesamtheit, d.h. für alle Schweine, anwendbar, wodurch auch jene statistische Sicherheit erreicht wird, mit der in der Biologie, Humanmedizin und auch in der Veterinärmedizin gearbeitet werden muß.

d) Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse.

Die nachstehend wiedergegebene Tabelle III enthält eine graphische Darstellung der Versuchsergebnisse unter Zugrundelegung des jeweiligen geometrischen Mittels. Dies liegt - wie bereits ausgeführt worden ist - etwas niedriger als das arithmetische Mittel, weil durch die logarithmische Aufarbeitung die extremen Werte das Gesamtergebnis weniger beeinflussen, als dies bei der Errechnung des arithmetischen Mittels der Fall ist.

Tabelle III

Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse
Tetanus - Antitoxin - Titer (geometr. Mittel) bei
Schweinen nach zweimaliger Impfung mit Tetatoxoid
(Ordinate logarithmisch geteilt)



IV. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Untersuchung der Seren sämtlicher 12 Versuchstiere vor der ersten Schutzimpfung hat ergeben, daß im Blut vom Schwein ein meßbarer, natürlicher Antitoxintiter mit den heute zur Verfügung stehenden Mitteln und Methoden nicht nachgewiesen werden kann, zumindest nicht in einer Höhe, die den Wert von 0,0005 IE/ccm erreicht. Das Vorhandensein niedrigerer, mit unseren heutigen Mitteln nicht feststellbarer Antitoxinmengen ist mit dieser Feststellung nicht ausgeschlossen, doch könnte dagegen folgende eigene Beobachtung sprechen:

Das Versuchstier No. 2, das bereits 15 Tage nach der ersten Impfung einen wesentlich höheren Antitoxintiter als die übrigen Versuchstiere aufwies und das am 10. Tage nach der zweiten Impfung den völlig aus dem Rahmen der übrigen Werte fallenden Antitoxingehalt von 10 IE/ccm erreichte, ferkelte 4 Monate nach der zweiten Impfung. 5 Junge der dieses Wurfes kastrierte ich im Alter von 6 Wochen und 5 Tage nach der Kastration zeigte eines dieser Tiere so starke tetanische Symptome, daß es getötet werden mußte. Das Tier kann somit von seiner Mutter, die man im Hinblick auf die bei ihr festgestellte Antikörpermenge als hyperimmunisiert bezeichnen könnte, auf diaplacentarem Wege Antitoxine nicht übertragen bekommen haben. Während Untersuchungen bei Menschen ergeben haben, daß dem Embryo auf dem Wege über die Placenta die verschiedensten Antikörper aus dem Kreislauf der Mutter übermittelt werden, haben die Versuche mit Tieren ergeben, daß bei ihnen die Übertragung mütterlicher Antikörper auf dem Wege über die Kolostralmilch erfolgt. In dem nun von mir beobachteten Fall war das Ferkel bereits 6 Wochen alt, das Kolostrum der Muttersau von den Ferkeln mithin schon seit mindestens 4 Wochen abgesaugt.

Hatte nun schon der Junge der mit der Kolostralmilch Antitoxin-Globuline aufgenommen, so waren diese wahrscheinlich schon seit einiger Zeit im Wege des Zerfalles der sie tragenden Moleküle ausgeschieden worden. Da somit das Ferkel weder aktiv noch passiv immunisiert war, mußte es der auf dem Wege über die Kastrationswunde gesetzten Infektion erliegen.

10 Tage nach der ersten Impfung hatten 10 oder 12 Schweine die niedrigste Maßgrenze des Antitoxintiters erreicht, bzw. überschritten, und auch bis zum 30. Tage nach der ersten Impfung ist ein verhältnismässig langsames Ansteigen des Antitoxingehaltes der verschiedenen Seren zu beobachten.

Im Verlaufe der der zweiten Impfung folgenden 10 Tage erfolgte nun die ausserordentlich starke Antitoxinausschüttung, die durch den steilen Anstieg der Kurve in Tabelle III besonders deutlich gemacht ist. Die Antitoxinmengen im Blut der Versuchstiere zeigen Höhen, die einen geometrischen Mittelwert von 0.661 erreichen, wobei die obenerwähnte Muttersau No. 2 sogar einen Antitoxintiter von 10.0 IE/ccm aufweist. An diesem Tage war aber auch der Kulminationspunkt des Antitoxingehaltes bei sämtlichen Versuchstieren erreicht, denn die am 30. Tage nach der zweiten Impfung und somit am sechzigsten Tage nach der ersten Impfung vorgenommene Serumprüfung ergab bereits ein Absinken des Antitoxintiters bei 10 der 12 Versuchstiere auf Werte, deren geometrisches Mittel 0.1916 ergibt. Immerhin kann aber dieses Absinken des Titers noch als ein verhältnismässig langsames bezeichnet werden, das im Verlauf seiner Kurve - ebenso wie es deren ansteigender Teil tut - dem Ergebnis auffallend ähnelt, das die Versuche bei Menschen erbracht haben.

Die Möglichkeit der Infektionen von Kastraten mit Tetanus könnte nun Veranlassung zu Schutzimpfungen auch bei Schweinen geben, wobei die Frage auftaucht, in wieviel Tagen nach der ersten Schutzimpfung die Immunisierung als ausreichend zur Abwehr einer lebensbedrohenden Infektion anzusehen ist. Um das beurteilen zu können, muß man davon ausgehen, daß die Antikörper von bestimmten Zellen des retikulo-endothelialen Systems auf Grund eines ihnen durch natürliche oder artifizielle Infektion erteilten antigenen Reizes gebildet und ins Blut abgegeben werden. Der Immunisierungsvorgang selbst zerfällt in 2 Phasen:

- a) in die Umstimmung der die Antikörper bildenden Zellen dahingehend, auf den spezifischen Reiz sofort mit der Bildung von Antitoxin zu antworten, d.h. also in die zelluläre Immunität, und
- b) in die Ausschüttung des von den Zellen gebildeten Antitoxinüberschusses ins Serum, d.h. in die humorale Immunität.

Nur der Eintritt der letzteren kann im Wege der Messung des Antitoxintiters im Serum nachgewiesen werden, wobei wiederum nicht die Höhe des Antitoxintiters für den Beginn der aktiven Immunität maßgebend sein dürfte, sondern allein die Tatsache, daß meßbare Antitoxinmengen im Serum vorhanden sind. Da nun erst am 15. Tage nach der ersten Schutzimpfung sämtliche Versuchstiere einen Tetanus-Antitoxintiter von mindestens 0,0005 IE/ccm aufwiesen, darf man wohl mit dem Eintritt des aktiven Impfschutzes bei Schweinen am 15. Tage nach einmaliger Impfung mit 1,0 bis 2,0 ccm Tetatoxoid rechnen.

V. Zusammenfassung.

1. Zweck der Untersuchungen war es, den Tetanusimmunitätsablauf bei Schweinen nach der Schutzimpfung mit Aluminium-Adsorbatimpfstoff darzustellen.
2. 12 Schweine wurden im Abstand von 30 Tagen zweimal mit je 1,0 bzw. 2,0 ccm Tetatoxoid - Asid geimpft.
3. Die Untersuchungen der Seren der Versuchstiere auf ihren Antitoxingehalt erfolgten vor der ersten Impfung, am 10., 15. und 30. Tage nach der ersten Impfung und am 10. und 30. Tage nach der zweiten Impfung.
4. Vor der ersten Impfung konnte bei keinem Schwein ein meßbarer natürlicher Antitoxintiter festgestellt werden.
5. 10 Tage nach der ersten Schutzimpfung konnte bei 10 Impflingen, 15 Tage nach jener bei sämtlichen Versuchstieren Tetanusantitoxin in individuell unterschiedlicher Höhe bestimmt werden, und bis zum 30. Tage nach der ersten Impfung zeigte sich bei der Hälfte der Schweine ein weiterer langsamer Anstieg des Antitoxinspiegels.
6. Die zweite Injektion bewirkte bei sämtlichen Versuchstieren einen steilen Anstieg des Tetanus-Antitoxintiters, wobei die individuell teilweise stark differierenden Maximalwerte am 10. Tage nach der zweiten Schutzimpfung erreicht wurden.
7. 30 Tage nach der zweiten Schutzimpfung wurde ein teilweise erhebliches Absinken des Antitoxinspiegels bei 11 von den 12 Versuchstieren festgestellt.
8. Die Untersuchungsergebnisse lassen den Schluß zu, daß bei Schweinen 15 Tage nach einer einmaligen Schutzimpfung mit 1,0 bzw. 2,0 ccm Tetatoxoid-Asid mit einer aktiven Tetanusimmunität gerechnet werden kann.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. B a r d e l l i, P.C.: Sulla trasmissione dell'immunità[^] centro il tetano da madre a figlio nel cavallo.
Ann.Igiene 40, 675-680 (1930).
Ref.Zbl. Bakt. Bd. 101 S. 464 (1931).
2. B e h r i n g, E.v.: Über ein neues Diphtherieschutzmittel.
Dtsch.Med.Wschr. 39, 873 (1913).
3. B e h r i n g, E.v.
und K i t a s a t o : Über das Zustandekommen der Tetanusimmunität bei Tieren.
D.M.W. 1890 S. 1113.
4. B e h r i n g, E.v.
und R a n s o m : Über Tetanugift und Tetanusantitoxin.
M.W. 1898 S. 181.
5. B u r k h a r d, G.: Zwei Beiträge zur Kenntnis der Formalinwirkung. Zbl. Bakt. 61, 271 (1912).
6. C a r l e und
R a t t o n e : zit. n. S c h m i d t, H.: Pathogenese, Therapie und Prophylaxe des Tetanus.
1952 Vorwort.
7. D e h m e l, H.: Methode zur Bestimmung niedriger Tetanus-Antitoxinwerte in kleinen Serummengen.
Z.f.Immunitätsforsch.Bd. 94,97 (1938).
8. v. E i s l e r, M.: Über Immunisierung mit durch Formaldehyd veränderten Tetanus-Toxin.
Wien.klin.Wschr.1915, S. 1223.
9. E i s l e r, M.v. und
L ö w e n s t e i n, E.: Über Formalinwirkung auf Tetanustoxin und andere Bakterientoxine.
Zbl. Bakt. 18, 257 (1895).
10. E i s l e r, M.v. und
S i l b e r s t e i n, F.: Ein Beitrag zur Gewinnung von Tetanusserum.
Z.v.Hyg. 89, 29 (1919).
11. G e l z, H.I.: Über die Indikation der passiven, simultanen und aktiven Schutzimpfung gegen Tetanus.
Tierärztl.Rdsch. 45 Jg. 22, 424 (1939).

12. H e i n i g, A.: Experimentelle Untersuchungen über den Eintritt der Immunität nach einmaliger Tetanus-Schutzimpfung.
Archiv f.exp.Vet.med. Heft 8 (1954).
13. L ö w e n s t e i n, E.: Über die aktive Schutzimpfung bei Tetanus durch Toxoide. Z.f.Hyg. 62, 491 (1909).
14. N i c o l a i e r, N.: D.W.W. 10, 842 (1884), zit. n.
S c h m i d t, H.
15. N o c a r d : Bull.Acad.med.Paris Nr. 38, S. 109.
Recueil med.vet. 1897, Nr.74, S. 545.
Zit.b. Gelz in Tierärztl.Pdsch. Bd. 35 (1939).
16. P o c h o n, J.: Recherches sur l'origine de l'immunité antitétanique naturellement acquise des ruminants.
17. P r i g g e, R.: Ann.Inst.Pasteur 57, 82, 1936.
Aktivierung der Tetanus-Impfstoffe durch Aluminiumverbindungen.
Zbl.Bakt. 145, 241 (1940).
18. R a m o n, G.: Aktive Immunisierung gegen Tetanus mittels Tetanus-Anatoxin.
"Der Chirurg", 1952, S. 241.
19. derselbe Die Grundlagen der Immunisierungs- und Impfmethode.
Wien.tierärztl.Mschr. 38, 521 (1951).
20. R a m o n, G. und
L e m é t a y e r, E.: Ergebnisse einer 15 Jahre lang in der Praxis angewandten Starrkrampfprophylaxe bei Haustieren und besonders bei Pferden durch Immunisierung mit Starrkrampfanatoxin.
B.M.T.W. 1942/335.
21. dieselben: Recherches sur l'immunité antitétanique naturellement acquise chez les ruminants.
Rev.d'Immun. 1935, 209.
Ref.Zbl.Bakt.Bd. 119, 85 (1935).

22. R a m o n, G. et
L e m é t a y e r, E.:
Sur l'aptitude à la production de l'antitoxine
tétanique des chevaux antérieurement vaccinés
contre le tétanos.
Presse med. 1931, 78.
Ref.Zbl.Bakt. Bd.102, 419 (1931).
23. dieselben:
La vaccination des animaux domestiques contre
le tétanos. Compt. rend. Soc. Biol. Bd. 107,
24 S. 1261-1262.
Ref.Tierärztl.Rdsch. 1, 1932.
24. dieselben:
A propos de l'augmentation de la production
de l'antitoxine tétanique par addition à
l'antigène.
Presse med. 1931, 78.
Ref.Zbl.Bakt.Bd.102, 419 (1931).
25. R o l l e, M. und
K a l i c h, J.:
Zur Entstehung des Tetanus aus dem Darmkanal.
B.M.T.W. 3, 37 (1933).
26. R ö m e r, P.:
Über das Vorkommen von Tetanusantitoxin im
Blute normaler Rinder.
Z.f.Imm. Forsch. 1, 363 (1909).
27. S a x i n g e r, G. und
H e i n i g, A.:
Experimentelle Untersuchungen bei Pferden
und Schafen über Eintritt und Dauer der
Immunität nach einmaliger Impfung mit Teta-
nustoxoid-Aluminiumhydroxyd-Schutzimpfstoff.
Monatsh. f.Vet.Med. 6, 434 (1951).
28. S c h m i d t, H.:
Pathogenese, Therapie und Prophylaxe des Te-
tanus, 1952.
N.G. Elwert Verlag Marburg/L.
29. S c h m i d t, S. und
H a n s e n :
C.r.Soc. Biol. 106, 314, 1931
zit. nach S c h m i d t, H.
30. S c h m i d t, H.:
Die aktive Immunisierung gegen Tetanus.
N.G.Elwert Verlag Marburg/L. (1952).
31. S m i t h, Th.:
J.med.Resarch, 16, 359 (1907).
Zit. nach S c h m i d t, H.

32. Teichmann, J.: Zur Frage der aktiven Immunisierung der Pferde mit Tetanus-Adsorbat-Impfstoff. Wien.tierärztl.Mschr. Bd. 39, S.659 (1952).
33. Waibel, J.: Der Tetanusantitoxingehalt im Blute bei Pferden nach Impfung mit Tetatoxoid. Inaugural-Dissertation München 1955.
34. Weber, Erna: Grundriß der Biologischen Statistik. 2.Auflage 1956.
35. Wolters, K.L.: Über die aktive Immunisierung gegen Tetanus mit Anatoxin. B.T.W. 48/429 (1932).
36. Wolters, K.L. und Dehmelt, H.: Über die aktive Immunisierung gegen Tetanus. Zbl.Bakt. 140, Heft 3/8 (1938).
37. dieselben: Über die aktive Immunisierung gegen Tetanus und ihre Bedeutung für die Praxis. B.M.T.W., 5, 61 (1938).
38. dieselben: Die Tetanusprophylaxe durch aktive Immunisierung. Zschr.f.Hyg. 122, 603 (1940).
39. dieselben: Abschliessende Untersuchungen über die Tetanusprophylaxe durch aktive Immunisierung. Zschr.f.Hyg.u.Inf.Kr. 124, 326 - 332 (1942).
40. Wolters, K.L. und Fischhoeder, E.: Aktive Tetanus-Schutzimpfung und Tetanus-Immunität. Ärztl.Wschr. 23, 537 (1953).

Am Ende meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. A. M e y n für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung.

Ferner danke ich Herrn Dr. W o l t e r s und Herrn Dr. F i s c h o e d e r, Asid-Institut Neuherberg für die Bereitstellung der Hilfsmittel und für die lebenswürdige Anleitung bei den Arbeiten im Institut.

L e b e n s l a u f

Am 21. Januar 1923 wurde ich als Sohn des Bauern und Gastwirtes Josef Lipsky und dessen Ehefrau Elsa, geb. Einaigl in Schmole / Sudetenland geboren. Nach Besuch der Volksschule erfolgte die weitere schulische Ausbildung in der Oberschule für Jungen in Hohenstadt, wo ich auch die Reife 1942 erlangte. Kurz darauf wurde ich zur Wehrmacht eingezogen und verbrachte den größten Teil meiner dreijährigen Dienstzeit in Pferdelaazaretten. Im November 1944 begann ich mein veterinär-medizinisches Studium in Berlin. Nach fast einjähriger Gefangenschaft setzte ich das Studium an der Tierärztlichen Hochschule im Winter-Semester 1946 in Wien fort. Das tierärztliche Diplom erhielt ich im März 1951. Bis Oktober 1953 betätigte ich mich als Praktikant und Assistent und bin seit dieser Zeit praktischer Tierarzt in Berchtesgaden.

